

拥挤胁迫下小鼠肝脏脂质过氧化物含量 和抗氧化物酶活性的变化

周显青^{1,3}, 梁洪蒙²

(1. 首都医科大学 实验动物科学部, 北京 100054; 2. 北京积水潭医院 妇产科, 北京 100035)

摘要: 把实验小鼠分成 2、6 和 10 只 3 个密度组, 饲养一周后取肝脏, 采用硫代巴比妥酸法、比色法和亚硝酸盐形成法分别测定脂质过氧化物、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶。6 只组和 10 只组小鼠肝脏脂质过氧化物显著高于 2 只组; 10 只组过氧化氢酶活性显著低于 2 只组, 说明拥挤降低小鼠肝脏中过氧化氢酶的活性, 使脂质过氧化物含量增加, 从而对机体造成过氧化损伤。

关键词: 拥挤; 脂质过氧化物; 过氧化氢酶; 超氧化物歧化酶

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-5853(2003)03-0238-03

Change in the Contents of Lipid Peroxide, and Activity of Antioxidant Enzymes in the Liver of Mice under Crowding Stress

ZHOU Xian-qing^{1,3}, LIANG Hong-meng²

(1. Department of Lab. Animal Sciences, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100054, China;

2. Department of Gynaecology and Obstetrics, Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China)

Abstract: Experimental mouse were treated with three living densities, 2, 6, and 10 individuals per cage (26 cm × 15 cm × 15 cm). After a week of the treatment, livers of the mouse were collected for determining the content of lipid peroxides, and the activities of the catalase and the superoxide dismutases with thiobarbituric acid reaction, colorimetry and nitrite-form method, respectively. The content of lipid peroxides in 6 ind.-group and 10 ind.-group was significantly higher than that in 2 ind.-group. The activity of the catalase in 10 ind.-group was lower than that in 2 ind.-group, suggesting that crowding results in the decline of the catalase activity, which induces the increase of lipid peroxides, bringing peroxidatic damage to the body.

Key words: Crowding; Lipid peroxides; Catalase; Superoxide dismutase

拥挤意味着个体心理安全受到威胁或私人空间 (personal space) 缩小, 会导致机体产生一系列负面情绪 (Jain, 1987)。拥挤不仅抑制金黄地鼠的生长, 造成不孕和产子数降低, 而且增加其生长期和妊娠期的死亡率 (Li & Zhang, 1999)。拥挤抑制金头鲷 (*Sparus aurata*) 血清补体活性和吞噬细胞的吞噬活性 (Ortuno et al, 2001); 促进其血浆皮质醇、促肾上腺皮质激素、 α -促黑激素的分泌, 血

浆生长激素水平的减少 (Rotllant et al, 2000)。脂质过氧化物含量受抗氧化物酶活性的控制, 即后者活性增强则前者含量降低, 二者处于动态抗衡状态 (Zhai et al, 2000)。本文探讨拥挤胁迫对小鼠体内脂质过氧化物和抗氧化物酶的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

收稿日期: 2002-11-22; 接受日期: 2003-03-18

3. 通讯作者 (Corresponding author), Tel: 010-63294102, E-mail: xqzhou@cpums.edu.cn

实验所用 ICR (也称 Swiss Hauschka) 小鼠来自首都医科大学实验动物部。雌雄各半, 共 38 只, 日龄 21 d, 体重 18~25 g。分 2、6 和 10 只 3 个密度处理组; 2 只组 3 笼, 6 和 12 只组各 2 笼, 雌、雄分笼饲养。鼠笼大小为 26 cm × 15 cm × 15 cm。采用普通级动物饲养条件饲养动物, 室内温度 20~25 °C, 自然光照, 自由饮水和进食。所喂饲料为北京九江饲料厂生产的全价饲料。该条件下饲养 1 周, 然后用断头法处死小鼠 (6 和 10 只组每笼各取 3 只, 2 只组全部, 因而每组样本数为 6; 雌雄各 3 只)。取其肝脏待用。

1.2 样品分析

取适量肝脏用冷生理盐水冲洗, 用滤纸吸取水分, 称重。肝脏和去离子水按 1:9 (W:V) 的比例在冰浴中匀浆。匀浆器为 DY89-1 型电动玻璃匀浆器, 转速为 1200 r/min。在 4 °C 条件下 800 g 离心 15 min, 取上清液 4 °C 保存, 待测。

蛋白质、脂质过氧化物、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶分别采用 Lowry et al (1951) 的 Felin-酚试剂法、Xiang & Wang (1990) 的过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度计改进法、Sinha (1972) 的方法、Oyanagui (1984) 和 Zhang (1996) 的亚硝酸盐形成法, 并分别在 754 型紫外分光光度计的 500、532、570、550 nm 处测定 OD 值。

2 结果

脂质过氧化物含量随饲养密度的增加而增大 ($F_{2,15} = 6.022, P < 0.05$)。6 只组和 10 只组均显著高于 2 只组, 但 6 只组和 10 只组之间没有明显不同 (图 1)。

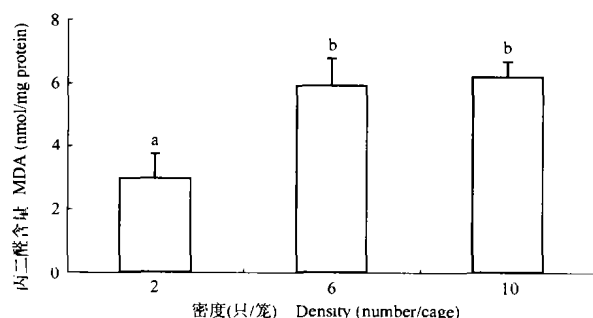


图 1 拥挤胁迫下小鼠肝脏脂质过氧化物含量的变化
Fig.1 Changes in the contents of lipid peroxides in the liver of mouse under crowding stress

柱上不同字母表示差异显著 (Different letters above the bar indicate a significant difference) (ANOVA-LSD, $P < 0.05$), $n = 6$ 。

过氧化氢酶的活性随着饲养密度的增加而减小 ($F_{2,15} = 3.741, P < 0.05$); 10 只组显著低于 2 只组, 其余组间无显著差异 (图 2)。

随着密度的增加, 超氧化物歧化酶看上去有降低的趋势, 但没有统计差异 ($F_{2,15} = 1.087, P > 0.05$) (图 3)。

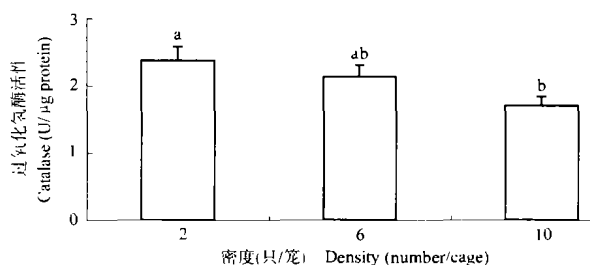


图 2 拥挤胁迫下小鼠肝脏过氧化氢酶活性的变化
Fig.2 Changes in the activity of the catalase in the liver of mouse under crowding stress

柱上标注, 见图 1。For the markers above the bar, see Fig.1.

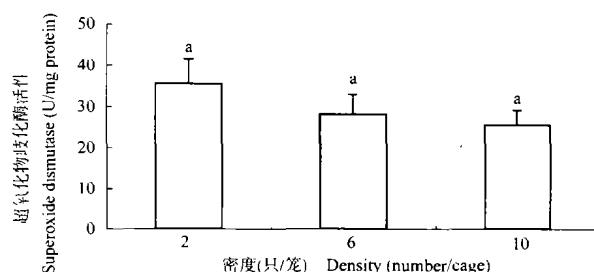


图 3 拥挤胁迫下小鼠肝脏超氧化物歧化酶活性的变化
Fig.3 Changes in the activity of the superoxide dismutase in the liver of mouse under crowding stress

3 讨论

随着密度的增加, 小鼠肝脏内丙二醛 (MDA) 明显提高。MDA 是脂质过氧化物的主要分解产物, MDA 含量升高实际上是氧自由基产生过多, 脂质过氧化反应增强, 脂质过氧化物增多的表现 (Feng, 1993)。自由基等活性氧是细胞的正常代谢产物, 既可参与一些正常的代谢反应和机体的防御机能, 也可使细胞内的蛋白质、核酸、糖类和脂类过氧化, 使细胞受损。正常情况下活性氧经细胞内抗氧酶及小分子抗氧化物清除, 不至于使细胞受损 (Halliwell & Gntterge, 1985)。但在应激情况下, 机体内自由基产生增多, 超出机体的清除能力, 破坏了体内自由基产生与清除之间的动态平衡, 从而发生由过多自由基引发的一系列对机体有害的病理、

生理反应。自由基等活性氧具有很强的氧化性,能攻击质膜中不饱和脂肪酸的双键,造成脂质过氧化,使体内脂质过氧化物增加。脂质过氧化物进一步分解,可产生大量的醛类、醇类和烃类,其中,MDA 是具有很强生物毒性的物质 (Ding, 1992),因而会对机体造成伤害。

超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 等组成的抗氧化酶系统,在抗氧化损伤中居于重要地位 (Gu et al, 1995)。氧自由基在 SOD 作用下生成氧分子和过氧化氢,过氧化氢在 CAT 作用下生

成水,从而清除自由基,减少脂质过氧化损伤。如烧伤大鼠小肠粘膜内 MDA 明显升高,给予外源 SOD 和 CAT 治疗,能明显降低 MDA 的含量,减轻脂质过氧化损伤但不能完全纠正 (Zhai et al, 2000)。这与 Cetinkale (1997) 的研究结果类似。研究表明,随着密度的增加,过氧化氢酶的活性明显下降;超氧化物歧化酶虽有降低的趋势,但没有明显的差异。由于抗氧化酶活性的降低,使机体抗氧化能力受阻,从而造成组织中脂质过氧化物增多。

参考文献:

- Cetinkale O. 1997. Evaluation of lipid peroxidation and total antioxidants status in the plasma of rats following thermal injury [J]. *Burns*, 2: 114.
- Ding KX. 1992. The Collection of Clinic Studies on SOD [M]. Beijing: Atomic Energy Press. 1-12. [丁可祥. 1992. SOD 临床研究集. 北京: 原子能出版社. 1-12.]
- Feng XW. 1993. Pathologic Physiology [M]. 3-rd edition. Beijing: People Sanitation Press. 220-224. [冯新为. 1993. 病理生理学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社. 220-224.]
- Gu J, Gong JH, Yin YB, Li J. 1995. Effects of intermittent hyperbaric oxygen exposure and oxygen convulsions on antioxidant enzyme activity and lipid peroxide contents in rats [J]. *Chin. J. Nat. Med.*, 2 (4): 31-34. [顾军, 龚锦涵, 殷岳保, 李俊. 1995. 高压氧间断暴露及氧惊厥对大鼠抗氧化酶活力及脂质过氧化物含量的影响. 中华航海医学杂志, 2 (4): 31-34.]
- Halliwell B, Gntterge TMC. 1985. Lipid peroxidation, oxygen, radicals, cell damage and antioxidant therapy [J]. *Lancet*, 1: 1396-1397.
- Jain U. 1987. The psychological consequences of crowding [M]. New Delhi: Sage Publications. 1-45.
- Li JJ, Zhang YQ. 1999. The effects of crowding on the growth development and reproduction in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) [J]. *Chin. J. Exp. Ani.*, 9 (4): 256. [李建军, 张玉勤. 1999. 拥挤对金黄地鼠生长发育和繁殖的影响. 中国实验动物学杂志, 9 (4): 256.]
- Lowery OH, Rosebrough NJ, Farr AL. 1951. Protein measurement with the Frolin phenol reagent [J]. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- Ortuno J, Esteban MA, Meseguer J. 2001. Effects of short-term crowding stress on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response [J]. *Fish Shellfish Immunol.*, 11 (2): 187-197.
- Oyanagui Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity [J]. *Anal. Biochem.*, 142: 290-296.
- Rotllant J, Balm PH, Ruane NM, Perez-Sanchez J, Wendelaar-Bonga SE, Tort L. 2000. Pituitary proopiomelanocortin-derived peptides and hypothalamus-pituitary-interrenal axis activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during prolonged crowding stress: Differential regulation of adrenocorticotropin hormone and alpha-melanocyte-stimulating hormone release by corticotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 119 (2): 152-163.
- Sinha AK. 1972. Colorimetric assay of catalase [J]. *Anal. Biochem.*, 47: 389-394.
- Xiang R, Wang DN. 1990. The improvement of the method spectrophotometer on lipid peroxides thiobarbituric acid [J]. *Prog. Biochem. Biophys.*, 17 (3): 241-242. [向荣, 王鼎年. 1990. 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进. 生物化学和生物物理进展, 17 (3): 241-242.]
- Zhai HJ, Li YQ, Zhang XY, He SG. 2000. The relationship between intestinal lipid peroxides and absorption of glucose in burn rats [J]. *Chin. J. Clin. Nutri.*, 8 (2): 100-103. [翟红军, 李艳玲, 张兴亚, 何三光. 2000. 烧伤大鼠脂质过氧化物与葡萄糖吸收. 中国临床营养杂志, 8 (2): 100-103.]
- Zhang RJ. 1996. Effects of trace elements-zinc and manganese on immune function and affecting mechanism in broiler [D]. Ph. D. thesis, University of China Agriculture. [张日俊. 1996. 微量元素铜、铁对肉仔鸡免疫机能的影响及其研究机理. 中国农业大学博士学位论文.]